

Praca pogładowa

Rola leukotrienów w procesie zapalenia w mukowiscydozie**The role of leukotrienes in inflammatory process in cystic fibrosis**

Aleksandra Korzeniewska, Iwona Stelmach

Oddział Kliniczny Interny Dziecięcej i Alergologii IP UM w Łodzi, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Zgierzu,
Kierownik: dr hab. n. med. I. Stelmach**Pneumonol. Alergol. Pol. 2004, 72, 52-55****Key words:** cystic fibrosis, inflammation, leukotrienes

Mukowiscydoza (cystic fibrosis; CF) jest najczęstszą uwarunkowaną genetycznie chorobą rasy białej dziedziczną w sposób autosomalny recesywny. Średnia częstość występowania w Europie Zachodniej wynosi 1:2500 urodzeń (1). Przyczyną choroby jest mutacja genu CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) odpowiedzialnego za prawidłowy przez błonowy transport jonów. W wyniku mutacji dochodzi do zaburzeń zewnątrzwydzielniczej funkcji gruczołów głównie w układzie pokarmowym i oddechowym. Mukowiscydoza jest chorobą ogólnoustrojową, manifestującą się objawami niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki ze wszystkimi jej następstwami oraz przewlekłej choroby oskrzelowo – płucnej (2).

Zarówno w trzustce jak i w układzie oddechowym dochodzi do degradacji mięszu. Obecność gęstej wydzieliny w drogach oddechowych, zwiększona adhezja bakterii do nabłonka oraz upośledzenie klirensu śluzowo – rzęskowego sprzyjają kolonizacji bakterii, przewlekaniu się procesu zapalnego, predysponując chorych do nawracających zakażeń dróg oddechowych. Dodatkowo u chorych na mukowiscydozę obserwuje się nadmierną odpowiedź zapalną, która silniej niż samo zakażenie, wpływa na proces destrukcji mięszu w układzie oddechowym (3). U chorych na mukowiscydozę obserwuje się w płucach podwyższone stężenia cytokin o działaniu prozapalnym np. interleukiny 1 (IL-1) i 8 (IL-8), TNF (tumor necrosis factor) i obniżenie stężenia interleukiny 10, hamującej proces zapalny. Dużą rolę w patogenezie choroby oskrzelowo – płucnej odgrywają proteazy, powodujące zaburzenie ruchu rzęsek, nadprodukcję śluzu, zwiększenie adhezji bakterii i uszkodzenie ściany dróg oddechowych (3). Badania nad procesem zapalenia w mukowiscydozie wskazują na dominującą rolę neutrofilów, które odpowiedzialne są za produkcję mediatorów zapalenia, w szczególności mieloperoksydazy (MPO) (4,5,6,7), nie mniej jednak w ostatniej de-

kadzie zwrócono również uwagę na podwyższoną aktywność eozynofili w tym procesie (8,9). Wśród wielu wewnątrzpocho-nych mediatorów zapalenia produkowanych zarówno przez eozynofile jak i komórki tuczne oraz neutrofile i makrofagi znaczącą rolę odgrywają leukotrieny.

Biosynteza leukotrienów

Leukotrieny, obok prostaglandyn i tromboksanów, należą do grupy fizjologicznie i farmakologicznie czynnych związków-eikozanoidów.

Źródłem eikozanoidów są 20-węglowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe, a głównie kwas arachidonowy, będący składnikiem błon komórkowych i stanowiący 5-15% wszystkich kwasów tłuszczowych w fosfolipidach (10,11). Arachidonian powstaje z fosfatydylodacylogliceroli błon plazmatycznych w wyniku działania fosfolipazy A2. W metabolizmie arachidonianu biorą udział dwa enzymy: cyklooksygenaza i 5-lipooksygenaza (5-LO). Na szlaku cyklooksygenazy syntetyzowane są prostaglandyny i tromboksany; na szlaku 5-lipooksygenazy – leukotrieny. W pierwszej kolejności powstaje leukotrien A-4 (LTA-4), który jest metabolizowany do leukotrienu B-4 (LTB-4) i leukotrienu C-4 (LTC-4). Następujące później odłączenie glutaminianu i glicyny powoduje powstanie kolejno: leukotrienu D-4 (LTD-4) oraz leukotrienu E-4 (LTE-4). Z uwagi na obecność cysteiny przy szóstym atomie węgla w cząsteczce leukotrieny C-4, D-4 i E-4 nazywane są leukotrienami cysteinylowymi. Leukotrieny cysteinylowe produkowane są głównie przez eozynofile i płucne komórki tuczne, źródłem LTB-4 są natomiast pobudzone neutrofile i makrofagi pęcherzykowe (11).

Biologiczna aktywność leukotrienów

Leukotrieny są produkowane niemal we wszystkich tkankach ustroju i stanowią grupę najsilniej działających mediatorów procesu zapalnego. W badaniach *in vitro* wykazano, że leukotrieny cysteinylowe w porównaniu z histaminą około 1000 razy silniej kurczą mięśnie gładkie oskrzeli; odgrywają bardzo ważną rolę w patogenezie astmy oskrzelowej, patogenezie obrzęku tkankowego, modulują proces prześieknięcia tkankowego oraz indukują skurcz naczyń. Dodatkowo leukotrieny cysteinylowe zwiększają produkcję śluzu przez gruczoły układu oddechowego oraz działają chemotaktycznie na eozynofile. Leukotrieny C-4 i D-4 mają zdolność modulowania reakcji immunologicznych m. in. rozplemienia fibroblastów i kłębkowych komórek śródbłonna, rozsiewu kolonii szpiczakowych u leczonych CSF oraz wzmocnienia wytwarzania IL-1 przez monocyty (11,12,13).

Leukotrien B-4 odgrywa istotną rolę w patogenezie takich chorób jak: reumatoidalne zapalenie stawów, dna moczanowa oraz choroby zapalne jelita grubego. LTB-4 odpowiada przede wszystkim za chemotaksję, agregację i adhezję neutrofilów do śródbłonna naczyń oraz degranulację tych komórek. Dodatkowo jest czynnikiem obniżającym próg bólu w reakcji zapalnej (11, 14).

Leukotrieny w procesie zapalenia w mukowiscydozie

W mukowiscydozie proces destrukcji mięszu płucnego uwarunkowany jest zarówno przewlekłym zakażeniem dróg oddechowych jak i nasiloną odpowiedzią zapalną. Obok wielu mediatorów reakcji zapalnej duże znaczenie w patogenezie tego procesu wydają się mieć leukotrieny.

Przeprowadzone przez Cromwel'a i wsp., Zakrzewskiego i wsp. oraz O'Driscoll'a i wsp. badania, już na początku lat 80-tych wykazały obecność leukotrienów cysteinylowych i leukotrienu B4 w płwocinie chorych na mukowiscydozę (15,16, 17). Późniejsze badania potwierdziły te obserwacje, a dodatkowo stwierdzono, że stężenia w jakich leukotrieny występują w wydzielinie dróg oddechowych u chorych są wystarczające do wywołania silnego efektu biologicznego w postaci wzrostu produkcji śluzu i przepuszczalności naczyń, skurczu mięśni gładkich oskrzeli oraz chemotaksji leukocytów (18, 19, 20). Sampson i wsp. (18) wykazał obecność leukotrienów cysteinylowych w wysokich stężeniach w płwocinie chorych na

CF z czego 90% stanowił LTE4. Stężenie LTB4 było ponad dwukrotnie wyższe od podawanego we wcześniejszych doniesieniach i korelowało z wysokim stężeniem LTC4. Oznaczony stężenie LTE4 w moczu było wyższe u dzieci chorych w porównaniu do grupy kontrolnej, ale, prawdopodobnie z uwagi na małą liczebność grupy badanej, nie były to różnice istotne statystycznie. U chorych na CF stężenie LTE4 w moczu może służyć jako marker toczącego się procesu zapalnego w układzie oddechowym gdyż koreluje ono ze stężeniami LTE4 i leukotrienów cysteinylowych w płwocinie. Spencer i wsp. (19) również wykazał obecność leukotrienów w wysokich stężeniach w płwocinie chorych na mukowiscydozę. Wśród leukotrienów cysteinylowych 75% stanowił LTE4; stosunkowo niskie stężenia LTC4 i LTD4 mogą być wynikiem ich szybkiej konwersji do LTE4. Dodatkowo w badaniu tym stwierdzono, że całkowite stężenie leukotrienów cysteinylowych i LTE4 koreluje ze skalą oceny radiologicznych zmian w układzie oddechowym. Skala Chrispin-Normana dobrze oddaje stopień ciężkości uszkodzenia mięszu płuc i koreluje ze zmniejszeniem FVC w badaniu spirometrycznym. Dane te przemawiają za znaczącym udziałem leukotrienów cysteinylowych w patogenezie destrukcji mięszu płuc, tym bardziej, że rola leukotrienów nie ogranicza się tylko do efektu prozapalnego, ale obejmuje również mechanizmy fibrogenetyczne. Metabolity 5-lipooksygenazy mogą wzmacniać fibrogenezę poprzez pośrednią aktywację wydzielania takich cytokin jak: FGF (fibroblast growth factor), TNF, IL-6 i IL-8 oraz interferonu γ (INF- γ) oraz działanie bezpośrednie na fibroblasty i inne komórki mezenchymalne stymulując ich chemotaksję, proliferację i syntezę kolagenu (21). Spencer nie wykazał zależności pomiędzy LTB4 a skalą Chrispin-Normana i pośrednio FVC, natomiast Greally i wsp. (22) wskazali istotną zależność między stężeniem LTB4, a FVC, co może przemawiać za współdziałaniem LTB4 w procesie zapalenia. Przytoczone obserwacje wydają się jednoznacznie przemawiać za istotną rolą leukotrienów w patogenezie choroby oskrzelowo-płucnej w mukowiscydozie. W przeciwieństwie do chorób o podłożu alergicznym, nadal jednak nie ma jednoznacznych dowodów wskazujących źródło i przyczynę wzmożonej produkcji tych mediatorów w mukowiscydozie. W chorobach alergicznych, w szczególności w atopowej astmie oskrzelowej, źródłem leukotrienów są komórki tuczne i kwasochłonne; w mukowiscydozie w procesie zapalenia biorą udział głównie neutofile, jednakże w latach 90-tych przeprowadzono badania, które wykazały podwyższoną aktywność eozynofilów w tej cho-

robie, niezależnie od współistnienia atopii (8,9, 23,24). Koller i wsp. wykazał w wydzielinie dróg oddechowych chorych na mukowiscydozę, podobnie jak w astmie, podwyższone stężenie ECP (eosinophil cationic protein) i EPX (eosinophil protein X) w porównaniu do osób zdrowych, a stężenia ECP i EPX nie zmieniały się w trakcie zaostrzenia choroby oskrzelowo-płucnej. W kolejnym badaniu Koller i wsp. wykazali korelację stężenia ECP w płwocinie i surowicy chorych na mukowiscydozę; stężenia ECP nie różniły się u chorych atopowych i bez atopii. W dalszych badaniach wykazano również podwyższone poziomy MBP (major basic protein) w surowicy i płwocinie chorych na mukowiscydozę, oraz wyższe niż u chorych na astmę stężenia ECP. Badania te potwierdzają podwyższoną aktywność eozynofili w mukowiscydozie, niezależnie od współistnienia atopii, można zatem wysunąć przypuszczenie, że komórki te mogą stanowić potencjalne źródło leukotrienów.

Dodatkowym źródłem leukotrienów mogą być także mastocyty, które w dużej liczbie obecne są w otoczeniu gruczołów w drogach oddechowych u chorych na mukowiscydozę. Najistotniejszym elementem w procesie metabolizmu leukotrienów jest jednak aktywacja szlaku fosfolipazy A2, a następnie 5-lipooksygenazy, niezbędna do produkcji leukotrienów. W literaturze podnoszony jest problem istnienia pierwotnego defektu genetycznego warunkującego aktywację tych szlaków związanego z nieprawidłową funkcją genu CFTR (25). W 1986 r. Carlstedt-Duke i wsp. (26) opisali nieprawidłową regulację wytwarzania kwasu arachidonowego z fosfolipidów błon komórkowych limfocytów u chorych na mukowiscydozę. Gilljam i wsp. (27) stwierdzili ponadto zaburzoną (zwiększoną) proporcję kwasu arachidonowego do innych fosfolipidów błon komórkowych w układzie oddechowym u chorych niezależnie od obecności infekcji, co przemawia za pierwotnym defektem metabolicznym. Strandvik i wsp. (28) upatrują w tym defekcie, prowadzącym do wzrostu produkcji eikozanoidów, przyczyny wielu podstawowych objawów choroby i jej systematycznej progresji. Obserwacje te potwierdzone zostały również przez Saak'a i wsp. (29), który sugeruje istotną rolę zaburzenia szlaku lipooksygenazy w patogeniezie zapalenia w mukowiscydozie. Opisany defekt może być przyczyną zwiększonego obrotu kwasu arachidonowego i nadmiernej produkcji leukotrienów w aktywowanych leukocytach. Grelly i wsp. wysunęli nieco inną hipotezę, sugerując w swoich doniesieniach udział TNF- α w procesie zwiększonej produkcji leukotrienów. TNF- α jest cytokiną produkowaną w

odpowiedzi na zakażenie lub inny proces zapalny, odpowiedzialną m.in. za chemotaksję i degranulację neutrofilów i dodatkowo wykazano, że ma zdolność aktywacji 5-lipooksygenazy i fosfolipazy A2. Stężenie TNF- α w płwocinie i surowicy chorych na mukowiscydozę wzrasta w okresie zaostrzeń i koreluje ze stopniem ciężkości zaostrzenia, natomiast w stabilnej fazie choroby obecny jest w stężeniach niższych, ale wystarczających do wywołania efektu biologicznego. Stężenia TNF- α korelują z wysokimi stężeniami zarówno LTB4 produkowanego tylko przez neutrofile jak i ze stężeniami leukotrienów cysteinowych, co może potwierdzać hipotezę aktywacji szlaków metabolicznych przez TNF- α . Autorzy tych obserwacji sugerują, że zwiększona produkcja TNF- α indukowana zakażeniem, korelująca z ciężkością choroby oraz potencjalna zdolność aktywacji szlaków metabolicznych eikozanoidów w większym stopniu niż pierwotny defekt genetyczny odpowiedzialna jest za nadmierną produkcję leukotrienów. Na rolę przewlekłego zakażenia, w szczególności kolonizacji *Pseudomonas aeruginosa* w indukowaniu produkcji LTB4 wskazali Lawrence i Sorrell (15). Wg tych badaczy głównym źródłem LTB4 i innych mediatorów zapalenia u chorych przewlekłe zakażonych *Pseudomonas aeruginosa* są makrofagi płucne. Wydzielane przez te komórki mediatory silnie chemotaktycznie oddziałują na neutrofile, które w dalszej kolejności potęgują proces zapalny. O ile udział bakteryjnego czynnika zapalnego wydaje się być prawdopodobnym mechanizmem wzmożonej produkcji LTB4, to w przypadku leukotrienów cysteinylowych badania nie potwierdzają wpływu infekcji bakteryjnej na ten proces. Zarówno w przytaczanych wcześniej badaniach Spencera jak i Zakrzewskiego nie znaleziono zależności pomiędzy poziomem leukotrienów cysteinylowych a zakażeniem bakteryjnym w układzie oddechowym; wysokie poziomy leukotrienów stwierdzono u pacjentów z CF, u których nie wyhodowano flory patogennej; antybiotykoterapia także nie wpływała na stężenia leukotrienów cysteinylowych w płwocinie. Część autorów zwraca uwagę na możliwość aktywacji produkcji leukotrienów w wyniku infekcji wirusowych; obserwowano wysokie stężenia LTC4 w popłuczynach z nosa u dzieci zdrowych po przebytej infekcji wirusowej górnych dróg oddechowych (30,31). Być może u pacjentów z mukowiscydozą w przypadku dodatkowej infekcji, zaburzony transport rzęskowy dodatkowo upośledza eliminację mediatorów i predysponuje do rozwoju przetrwałego procesu zapalnego.

Podsumowanie

W świetle omówionych doniesień udział leukotrienów w procesie zapalenia w mukowiscydozie wydaje się być niepodważalny, natomiast mechanizm ich aktywacji i źródło produkcji nie zostały jednoznacznie określone. Mając na uwadze złożoność choroby prawdopodobnie produkcja tych mediatorów jest procesem aktywowanym na drodze

wielu współistniejących mechanizmów. Aktualnie, wobec braku przyczynowego leczenia mukowiscydozy, badania powinny być ukierunkowane na poszukiwanie możliwości efektywnego hamowania lub osłabiania procesu zapalnego, w tym substancji blokujących nadmierny metabolizm eikozanoidów jak np. inhibitory 5-lipooksygenazy i fosfolipazy lub leków blokujących receptory leukotrienowe.

Piśmiennictwo

- Aharony D.: Pharmacology of leukotriene receptor antagonists. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998, 157, 214-219.
- Busse W.: Leukotrienes and inflammation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998, 157, 210-213.
- Carlstedt-Duke J., Bronnegard M., Strandvik B.: Pathological regulation of arachidonic acid release in cystic fibrosis: the putative basic defect. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1986, 83, 9202-9206.
- Cromwell O. i wsp.: Identification of leukotrienes in sputum of patients with cystic fibrosis. *Adv. Prostaglandin Tromboxane Leukot. Res.* 1982, 9, 251-7.
- Dodge J.A. i wsp.: Incidence, population, and survival of cystic fibrosis in the UK, 1968 – 95. *Arch. Dis. Child* 1997, 77, 493-496.
- Eichler I. i wsp.: Human neutrophil lipocain, a highly specific marker for acute exacerbation in cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 1999, 14, 1145-1149.
- Fabbri L. i wsp.: Role of leukotrienes in asthma pathogenesis. *Monaldi Arch. Chest Dis.* 1996, 6, 548-555.
- Gilljam H. i wsp.: Increased mole fraction of arachidonic acid in bronchial phospholipids in patients with cystic fibrosis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1986, 46, 511-518.
- Greally P. i wsp.: Sputum tumor necrosis factor- α and leukotriene concentrations in cystic fibrosis. *Arch. Dis. Child.* 1993, 68, 389-392.
- Koller D. Y. i wsp.: Cytokine concentrations in sputum from patients with cystic fibrosis and their relation to eosinophil activity. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997, 155, 1050-1054.
- Koller D. Y. i wsp.: Eosinophilic activation in cystic fibrosis. *Thorax* 1994, 49, 496-499.
- Koller D. Y. i wsp.: Major basic protein, but not eosinophil cationic protein or eosinophil protein X, is related to atopy in cystic fibrosis. *Allergy* 1999, 54 (10), 1094-1099.
- Koller D. Y. i wsp.: Serum eosinophil cationic protein, eosinophil protein X and eosinophil peroxidase in relation to pulmonary function in cystic fibrosis. *Clin. Exp. Allergy* 1998, 28 (2), 241-248.
- Koller D. Y., Urbanek R., Gotz M.: Increased degranulation of eosinophil and neutrophil granulocytes in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995, 152, 629-633.
- Lawrence R., Sorrell T.: Eicosapentaenoic acid in cystic fibrosis: evidence of pathogenetic role for leukotriene B₄. *Lancet* 1993, 342, 465-469.
- Mayes P. A.: Metabolizm nienasyconych kwasów tłuszczowych i eikozanoidów, red. Kokot F.: *Biochemia Harpera*, PZWL, Warszawa 1994, 274-283.
- O'Driscoll B. R., Cromwell O., Kay A. B.: Sputum leukotrienes in obstructive airways diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 1984, 55, 397-404.
- Pogorzelski A., Żebrak J.: Zasady leczenia chorych na mukowiscydozę. *Klin. Ped.* 1996, 4 (3), 33-42.
- Riordan J. R. i wsp.: Identification of cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989, 245, 1066-1073.
- Saak A. i wsp.: Generation and metabolism of leukotrienes in granulocytes in patients with cystic fibrosis. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1990, 93, 227-236.
- Sagel S. D. i wsp.: Induced sputum inflammatory measures correlate with lung function in children with cystic fibrosis. *J. Pediatr.* 2002, 141, 811-817.
- Sampson A. P. i wsp.: Leukotrienes in the sputum and urine of cystic fibrosis children. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1990, 30, 861-869.
- Spencer D. A. i wsp.: Sputum cysteinyl-leukotriene levels correlate with severity of pulmonary disease in children with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 1992, 12, 90-94.
- Stelmach I. i wsp.: Leki antyleukotrienowe w leczeniu astmy oskrzelowej u dzieci. *Przegl. Ped.* 2001, 31(1), 19-24.
- Stelmach I. i wsp.: Organizacja opieki nad chorym na mukowiscydozę w województwie łódzkim w roku 2001.
- Strandvik B. i wsp.: Relation between defective regulation of arachidonic acid release and symptoms in cystic fibrosis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1988, 143, 1-4.
- Wang E. E. L. i wsp.: Association of respiratory viral infections with pulmonary deterioration in patients with cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1984, 311, 1653-1658.
- Weiss S. J.: Tissue destruction by neutrophils. *N. Engl. J. Med.* 1989, 320, 365-375.
- Wilborn J. i wsp.: Constitutive activation of 5-lipoxygenase in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest.* 1996, 97, 1827-1836.
- Volovitz B., Paden H., Ogra P. L.: Release of leukotriene C₄ in respiratory tract during acute viral infection. *J. Pediatr.* 1988, 112, 218-222.
- Zakrzewski J. i wsp.: Lipid mediators in cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987, 136, 779-782.

Data wysłania: 13.05.2003

Adres: Oddział Kliniczny Interny Dziecięcej i Alergologii IP UM w Łodzi,
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny 95-100 Zgierz ul. Parzęczewska 35